

Insulinaktivitäten im Plasma von Hunden nach Pankreatektomie

Erika Saure

1964

Aus der 1. Medizinischen Universitätsklinik
Frankfurt am Main

(Direktor: Prof. Dr. F. Hoff)

I n s u l i n a k t i v i t ä t e n
i m P l a s m a v o n H u n d e n
n a c h P a n k r e a t e k t o m i e

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der gesamten Medizin

der hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Erika Saure

aus Berlin

Frankfurt am Main 1963



Dekan : Prof. Dr. J. Frey
Referent : Prof. Dr. E. F. Pfeiffer
Korreferent : Prof. Dr. G. Taubmann
Mündliche Prüfung : 1. Juni 1964



Gliederung:

	Seite
A. Einleitung und Fragestellung	2
B. Methodik	6
1. Nachweis der Plasma-Insulin-Aktivität mit Hilfe radioaktiv markierter Glukose am epididymalen Fettanhang der Ratte.	
2. Versuchsanordnung.	
C. Ergebnisse	14
D. Diskussion	24
1. Vergleich der verschiedenen Nachweisverfahren.	
2. Bewertung der eigenen Ergebnisse.	
E. Zusammenfassung	38
F. Literaturverzeichnis	40



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546413_0014

Einleitung und Fragestellung.

Die heute üblichen Methoden zur Bestimmung des Serum- oder Plasma-Insulin-Gehaltes bei Menschen und Tieren beruhen vorwiegend auf in-vitro-Verfahren, bei denen der Effekt von zugesetztem kristallinem Insulin und Serum bzw. Plasma auf Glukose-Aufnahme und Oxydation durch isolierte tierische Gewebe vergleichend gemessen werden.

Es werden folgende Gewebe benutzt:

1. Das isolierte Ratten-Zwerchfell, an dem die Glukose-Aufnahme gemessen wird [Groen u. Mitarb. (1954), Randle (1954), Vallance-Owen u. Mitarb. (1954)].
2. Das isolierte, perfundierte Rattenherz, an dem ebenfalls die Glukose-Aufnahme gemessen wird, und das isolierte Gewebe der laktierenden Mamma der Ratte, den dem die CO_2 -Produktion festgestellt wird. Beide Methoden haben keine weitere Verbreitung gefunden. [Balmain u. Mitarb. (1954), Bleehan u. Mitarb. (1954), Abraham u. Mitarb. (1957)]
3. Messung der C^{14}O_2 -Produktion am isolierten epididymalen Fettanhang der Ratte durch Oxydation von radioaktiv markierter Glukose

[Martin, Renold, Dagenais (1958), Martin, Renold, Pfeiffer, Dagenais (1958); Ditschuneit, Chang-Su Ahn, M.Pfeiffer, E.F.Pfeiffer (1959), E.F.Pfeiffer, M.Pfeiffer, Ditschuneit, Chang-Su Ahn (1959)].

Alle diese Verfahren lassen jedoch die Frage nach der Spezifität dessen, was bestimmt wird, offen.

Immer wird nur die effektive Insulin-Wirkung gemessen, nicht dagegen der absolute Insulingehalt der betreffenden Plasma- oder Serumprobe. Im angelsächsischen Schrifttum wird diese Tatsache daher durch die Bezeichnung "insulin-like activity" berücksichtigt.

Besser wäre hier noch die Bezeichnung "effektive insulinähnliche Wirkung" [Pfeiffer u.Mitarb. (1959)], vor allem, solange wir über die kontrainsulinären oder insulinhemmenden Faktoren so wenig wissen [Bornstein u. Mitarb. (1953), Randle u. Mitarb. (1956), Vallance-Owen u. Mitarb. (1957), Vallance-Owen u. Mitarb. (1958)].

Hieraus ergibt sich, daß in jedem Laboratorium, das sich mit der Bestimmung von Insulin im Blute beschäftigt, noch zusätzliche funktionelle Befunde gewonnen werden müssen, um nach biologischen Gesichtspunkten

die Spezifität des benutzten Nachweisverfahrens für klinische und experimentelle Zwecke kritisch beurteilen zu können.

Derartige Befunde suchten Pfeiffer u. Mitarb. (1958) bei Verwendung der auch in den vorliegenden Untersuchungen benutzten Methode der Plasma-Insulin-Bestimmung am epididymalen Fettanhang der Ratte unter Verwendung markierter Glukose dadurch zu erbringen, daß sie vergleichend bei Versuchstieren und Menschen in verdünntem Serum die insulin-ähnliche Wirkung unter Bedingungen untersuchten, die einen gegenüber der Norm erhöhten Insulinspiegel erwarten ließen.

Diese Erhöhung wurde tatsächlich im pankreasnahen Portalvenenblut gegenüber der Peripherie bei Hunden und Ratten spontan gefunden, ebenso im peripheren Blut von Stoffwechselgesunden nach Gabe von Glukose und blutzuckersenkendem Sulfonylharnstoff, bei Altersdiabetikern allein nach Sulfonylharnstoff, bei Insulomen sowohl spontan als auch nach Zufuhr dieser physiologischen und pharmakologischen Inselstimulatoren. Aus diesen Beobachtungen wurde geschlossen, daß

mit der verwandten Methode tatsächlich überwiegend Insulin gemessen wird, und das Verfahren zur Bearbeitung von Problemen der Pankreasphysiologie und -pathologie empfohlen werden kann.

Von Leonards (1959) wurde jedoch mitgeteilt, daß die insulinähnliche Wirkung im Serum auch nach totaler Pankreatektomie beim Hunde bei der Untersuchung mit der Methode am epididymalen Fettanhang der Ratte nachweisbar bleibt. Außerdem sei der die Insulin-Wirkung verursachende Faktor nicht mit Säure-Alkohol aus dem Blut zu extrahieren, was mit zum Serum zugesetztem Jod-131-markiertem Insulin zu 85% gelänge. Auf Grund dieser Befunde zweifelt Leonards an der Spezifität dieser biologischen Insulin-Nachweismethode.

Die vorliegenden Untersuchungen setzen sich mit diesem Einwand auseinander und beschäftigen sich mit der Plasma-Insulin-Aktivität von vier am Ch.-H.-Best-Institut in Toronto/Canada von A. und O. Sirek pankreatektomierten Hunden.

Methodik:

Zur Untersuchung gelangte das ungerinnbar gemachte Plasma von vier pankreatektomierten Hunden, das uns eingefroren aus dem Ch.-H.-Best-Institut per Flugzeug zugeschickt wurde. Von jedem Hund erhielten wir 10 verschiedene Plasma-Proben, die zu folgenden Zeiten vor, während und nach der Operation entnommen worden waren:

1. Gesundes Tier vor der Operation.
2. Gesundes Tier, hungernd.
3. Nüchternblut vom Tag der Operation.
4. Probe aus der Vena pancreatico-duodenalis während der Operation.
5. Gleichzeitig entnommene Probe aus der Vena cubitalis.
6. 48 Stunden nach der Operation.
7. Eine Woche gut mit exogenem Insulin eingestellt (32 E/Tag).
8. 3 Tage ohne Insulin.
9. 4 Tage ohne Insulin.
10. 5 Tage ohne Insulin.

Zwei Hunde starben, so daß von einem Tier nur Proben bis zum Zeitpunkt 5., von einem anderen bis zum Zeit-

punkt 6. existieren.

Mit jedem Plasma wurden 3-fach-Untersuchungen durchgeführt.

Die Bestimmung der Insulin-Aktivität des Hunde-Plasmas erfolgte mit der von Martin u. Mitarb. (1958) beschriebenen Methode in der von Ditschuneit u. Mitarb. 1959 angegebenen Weise:

Junge männliche Albino-Wistar-Ratten, 180-200 gr schwer, normal ernährt, bis zum Versuch ad libitum gefüttert, werden durch Schlag auf den Kopf getötet und entblutet. Nach sofortiger Eröffnung der Bauchhöhle werden die Hoden herausgehoben und von dem daran hängenden Nebenhoden-Fettgewebe von jeder Seite 3 Stückchen mit einer Schere, möglichst ohne das Gewebe zu alterieren, abgeschnitten und in 6 verschiedene Fläschchen mit je 2 ml Inkubationsflüssigkeit gegeben.

Zur Bestimmung des Fettgewichts werden die Fläschchen vor und nach Zugabe der Fettzipfel gewogen. Die Gewichte liegen im allgemeinen zwischen 80 und 180 mg.

Die Inkubationsflüssigkeit in 4 Fläschchen besteht aus 0,1 ml einer an C_1 markierten C^{14} -Glukose mit einer Gesamtaktivität von 0,2 μ C, 0,5 ml verschiedenen

zu untersuchenden Hundeplasmas und gelatinehaltigem (200 mg%) Krebs-Ringer-Puffer mit einem p_H von 7,4. Das ganze Medium wird unter Berücksichtigung des Glukosegehaltes des Plasmas, der zuvor enzymatisch nach der Methode von Hugget u. Nixon bestimmt wurde, auf 250 mg% Glukose eingestellt. In zwei weiteren Fläschchen befindet sich statt Plasma eine Insulin-Lösung mit 1000 μ E/ml und 62,5 μ E/ml Insulin. Auch hier ist der Glukosegehalt auf 250 mg% eingestellt. Mit diesen sog. "Standard-Werten" wird die Kurve der Insulin-Aktivitäten für jeden Versuch neu angelegt. Das ist nötig, weil das Fettgewebe von unterschiedlichen Ratten sehr verschieden reagieren kann.

Die Insulin-Standard-Lösungen werden jedesmal neu hergestellt aus mehrfach umkristallisiertem, glucagon-freiem Insulin der Firma Hoechst. Die Verdünnungen 50 E/ml und 1 E/ml werden mit $\frac{n}{300}$ -Salzsäure, die weiteren Verdünnungen mit dem Gelatine- (200 mg%) und glukosehaltigem (250 mg%) Krebs-Ringer-Puffer hergestellt.

Der Puffer hat folgende Zusammensetzung:

100 ml 0,154 m NaCl

4 ml 0,154 m KCl

3 ml 0,110 m $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
1 ml 0,154 m MgSO_4
1 ml 0,154 m KH_2PO_4
21 ml 0,154 m NaHCO_3

Jede Bestimmung wird 3-fach durchgeführt, d.h. jedes Plasma und auch die Insulin-Standard-Lösungen werden in 3 Gläschen mit Fett von 3 verschiedenen Ratten gefüllt.

Ein Versuchsansatz besteht also aus 3 mal 6, das sind 18 Fläschchen. In 3 mal 4, das sind 12 Fläschchen, werden 4 verschiedene Hunde-Plasma-Proben x_1-x_4 untersucht, und in 3 mal 2, das sind 6 Fläschchen, werden die 2 Insulin-Standards bestimmt. Die Gläschen tragen eine fortlaufende Numerierung. Ueber die Aufstellung für einen Versuch unterrichtet die Abbildung 1. Die Fläschchen werden mit Gummistopfen verschlossen, die von 2 kurzen, mit Gummikappen versehenen Glasröhrchen durchbohrt sind. Diese dienen zur Durchströmung der Fläschchen (2 min.) mit Oxycarbon, d.i. 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxyd. Danach werden die Fläschchen $2\frac{1}{2}$ Stunden im Schüttel-Wasserbad bei 37°C inkubiert.

Anschließend wird durch die Gummikappen der Glasröhr-

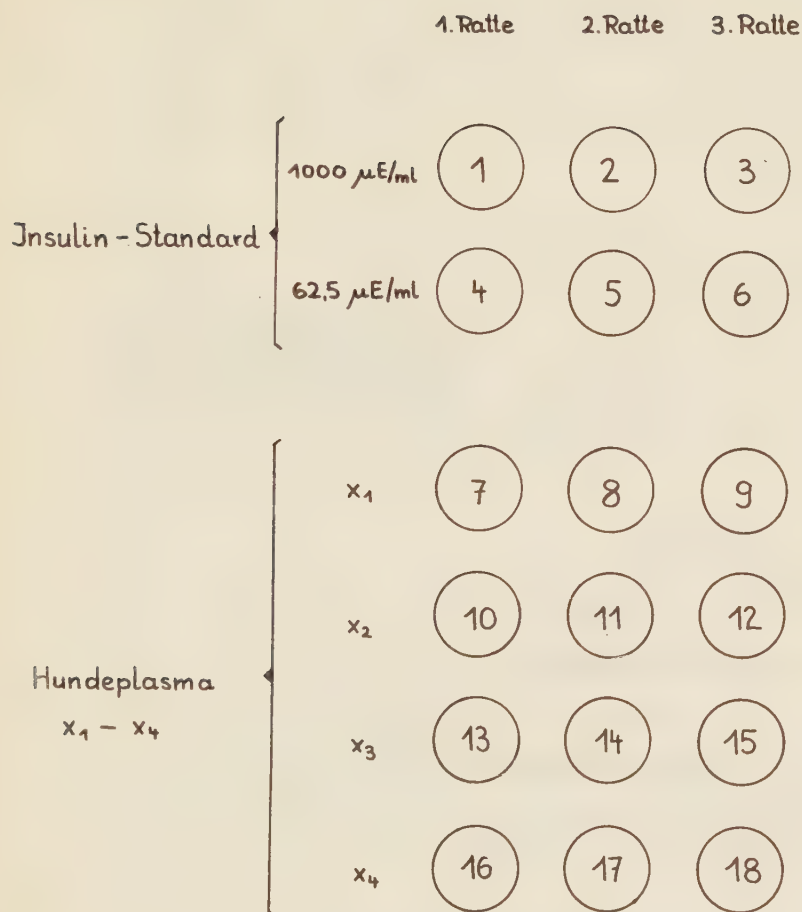


Abb. 1: Aufstellung der Fläschchen für einen
Versuchsansatz
(3-fach-Bestimmungen von 4 verschiedenen
Hundeplasma proben)

chen mit einer Tuberkulin-Spritze 0,3 ml 1-n-Schwefelsäure in das Inkubationsmedium injiziert und in ein Plastikschälchen, das unter dem Stopfen hängt, 0,25 ml 5-n-Natronlauge zur Adsorption des gebildeten Kohlendioxyds (Abb. 2).

Nach weiteren 2 Stunden Inkubation, diesmal im stehenden Wasserbad von 37°C, wird das entstandene Natriumcarbonat quantitativ in vorgewogene Zentrifugenröhrchen, die 3 ml Bariumchlorid (3%) und Ammoniumchlorid (2,7%) enthalten, überführt.

Reaktionsgleichung:



Das ausgefällte Bariumcarbonat wird dreimal zentrifugiert und mit Aqua dest. ausgewaschen (um das bei der Reaktion auch entstandene, in Lösung befindliche Natriumchlorid zu entfernen) und anschließend über Nacht im Wärmeschrank getrocknet.

Zur Ermittlung des gesamten Carbonat-Gewichts werden die getrockneten Zentrifugenröhrchen wieder gewogen. Mit einigen Tropfen Aqua dest. aufgelöst, wird das Carbonat dann auf Planchetten pipettiert und getrocknet. Die Planchetten werden leer und mit Carbonat

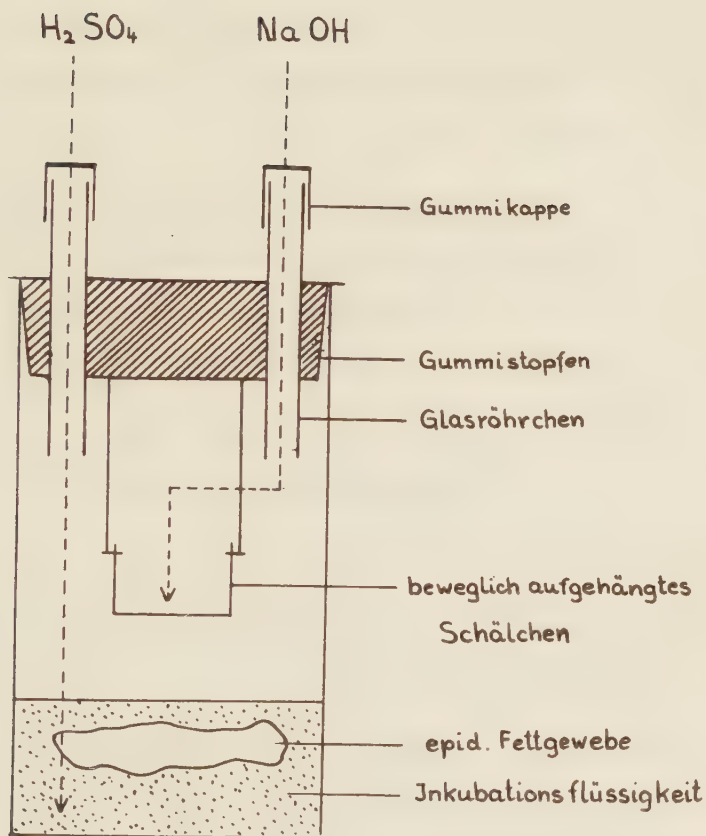


Abb.2: Schematische Darstellung der für die Versuche verwandten Fläschchen

gewogen, so daß nicht nur die Gesamtmenge des entstandenen Carbonats, sondern auch der davon auf die Planchetten überführte Anteil bekannt ist, dessen Gehalt an radioaktivem Kohlenstoff mit einem Geigerzähler festgestellt wird.

Zwischen der Insulinkonzentration im Inkubationsmedium und der Bildung von radioaktivem Kohlendioxyd besteht eine exponentielle Abhängigkeit, wie in Untersuchungsreihen mit fallenden, bekannten Insulinkonzentrationen von Ditschuneit u. Mitarb. (1959) nachgewiesen und mathematisch festgelegt werden konnte. Bezüglich der Einzelheiten auch der statistischen Sicherung der Methode sei auf diese Arbeit verwiesen.

$$C^{14}O_2\text{-Bildung} = \sqrt[2]{\frac{\text{Gesamt-Carbonat} \cdot \text{Impulse/min.}}{\text{Planchetten-Carbonat} \cdot \text{Fettgewicht}}}$$

Die Korrelation des Logarithmus der Insulin-Konzentration mit der Quadratwurzel aus der gemessenen auf mg Fettgewicht umgerechneten Impulszahl/min. ergibt eine lineare Regression. Damit kann die Beziehung durch entsprechende Koordinatenteilung graphisch als Gerade dargestellt werden. Die Gerade wird auf semi-logarithmischem Papier durch die beiden Werte für $62,5 \mu E/ml$ und $1000 \mu E/ml$ festgelegt und die unbekannten Insulin-Konzentrationen dann abgelesen.

Da der Verlauf der Kurve sehr stark von der individuellen Stoffwechsel-Aktivität des Fettgewebes der verschiedenen Ratten abhängig ist, muß für jeden Versuch, der mit dem Fett einer Ratte ausgeführt wird, der Verlauf der Geraden durch 2 bekannte Insulin-Konzentrationen (den sog. "Standards" bei $62,5 \mu\text{E/ml}$ und $1000 \mu\text{E/ml}$) aufs Neue festgelegt werden.

Ergebnisse:

Die Werte der einzelnen Bestimmungen der Plasma-Insulin-Aktivität für alle vier Hunde finden sich in Tabelle 1. Die unterschiedliche Anzahl an Bestimmungen einer Plasma-Probe (zwei bis vier) erklärt sich aus den unterschiedlich großen Mengen des uns zugesandten Materials. Außerdem sind in Tabelle 1 die Insulin-Konzentrationen ($\mu\text{E/ml}$) für Plasma in der Verdünnung 1:4 angegeben. Für die Aufstellung der Mittelwerte, sowie für die graphischen Darstellungen der Ergebnisse wurden die Werte verdoppelt, um sie anderen Angaben über Plasma-Insulin-Konzentrationen vergleichbar zu machen, die mit dieser Methode in Plasma bzw. Serum, das stets 1:2 verdünnt war, gefunden wurden.

Die Mittelwerte der Insulin-Konzentrationen der Plasma-Proben finden sich in Tabelle 2.

Tabelle 3 zeigt die von uns enzymatisch bestimmten Glukose-Spiegel der Plasma-Proben, sowie das Auftreten von Zucker und Keton-Körpern im Harn bei Hund "A" und "B" nach der Operation. Diese letzten Werte wurden in Toronto bestimmt.

Im Einzelnen ergibt sich Folgendes:

1.) Die Normalwerte der Insulin-Konzentrationen im Plasma von Hunden bewegen sich nach unseren Ergebnissen durchschnittlich um $170 \mu\text{E/ml}$, mit Schwankungen zwischen 80 und $320 \mu\text{E/ml}$.

2.) Die große Differenz des Insulin-Gehaltes in der Vena pancreatico-duodenalis und einer peripheren Vene (Pfeiffer, Renold u.a., 1958) ist bei Hund "B" sehr deutlich mit $1650 \mu\text{E/ml}$ in der Vena pancreatico-duodenalis gegenüber $380 \mu\text{E/ml}$ in der Vena cubitalis vorhanden (Abb.4). Bei den drei anderen Hunden ließ sich dieser Befund nicht erheben (Abb.3, 5 und 6).

	vor der Op.		während der Op.					nach der Operation			
	normal	nüchtern	nüchtern	V.pance duod.	V.cubi- talis	48 h p.o.	1Woche gut mit 32 E Insulin eingest.	3.Tag nach der letzten Insulin- gabe	4.Tag nach der letzten Insulin- gabe	5.Tag nach der letzten Insulin- gabe	
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	
Hund	125	140	90	100	100	80	28	160	56	21	
A	100	180	38	100	110	120	60	230	100	86	
								260			
B	70	50	90	1100	190	270	40	30	20	35	
	140	100	120	400		70	200	35	20	15	
			35	700			170			50	
C		70	65	75	170					25	
		70	35	140	130						
			60	100	75						
					100						
D		100	70	55	88	55					
		85	20	170	150	35					
				40		60					

Tabelle 1: Insulinaktivität in 10 Plasma-Proben der Hunde A bis D

Einzelergebnisse

(Plasma-Insulinaktivität in $\mu\text{E/ml}$)

	vorder Op.		während der Op.			nach der Operation					
	normal nüchtern	(1)	nüchtern	V. pancreas duod.	V. cubitalis	48 h p. o.	1 Woche gut mit 32 E Insulin eingest.	3. Tag nach der letzten Insulin-gabe	4. Tag nach der letzten Insulin-gabe	5. Tag nach der letzten Insulin-gabe	
	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)		
Hund											
A	220	320	130	200	210	200	200	80	440	160	100
B	210	160	160	1650	380	340	230	< 30	< 30	< 30	
C	-	140	100	210	240	-	-	-	-	-	
D	-	200	80	200	240	100	-	-	-	-	

Tabelle 2: Insulinaktivität in 10 Plasma-Proben der Hunde A bis D

Mittelwerte (Plasma-Insulinaktivität in $\mu\text{E/ml}$)

Hund	vor der Op.			während der Op.			nach der Operation				
	normal nüchtern			Vpauer-Vocubitalis			48 h p. o.	1 Woche	3. Tag	4. Tag	5. Tag
A	Blutzucker [mg%]	102	100	110	138	124	253	292	326	227	328
	Urin:										
	Zucker [g/die]	-	-	-	-	-	26,0	Ø	122,5	138,8	26,3
B	Ketonkörper	-	-	-	-	-	Ø	Ø	+++	+++	+++
	Blutzucker [mg%]	123	129	97	130	124	292	471	370	352	525
	Urin:										
C	Zucker [g/die]	-	-	-	-	-	26,0	2,3	17,5	35,6	40,0
	Ketonkörper	-	-	-	-	-	Ø	Ø	++	++	+++
	Blutzucker [mg%]	-	127	141	124	99					
D	Blutzucker [mg%]	-	117	176	114	100	268				

Tabelle 3: Verhalten von Blutzucker, sowie Zucker- und Ketonkörperausscheidung im Urin bei den Hunden A bis D

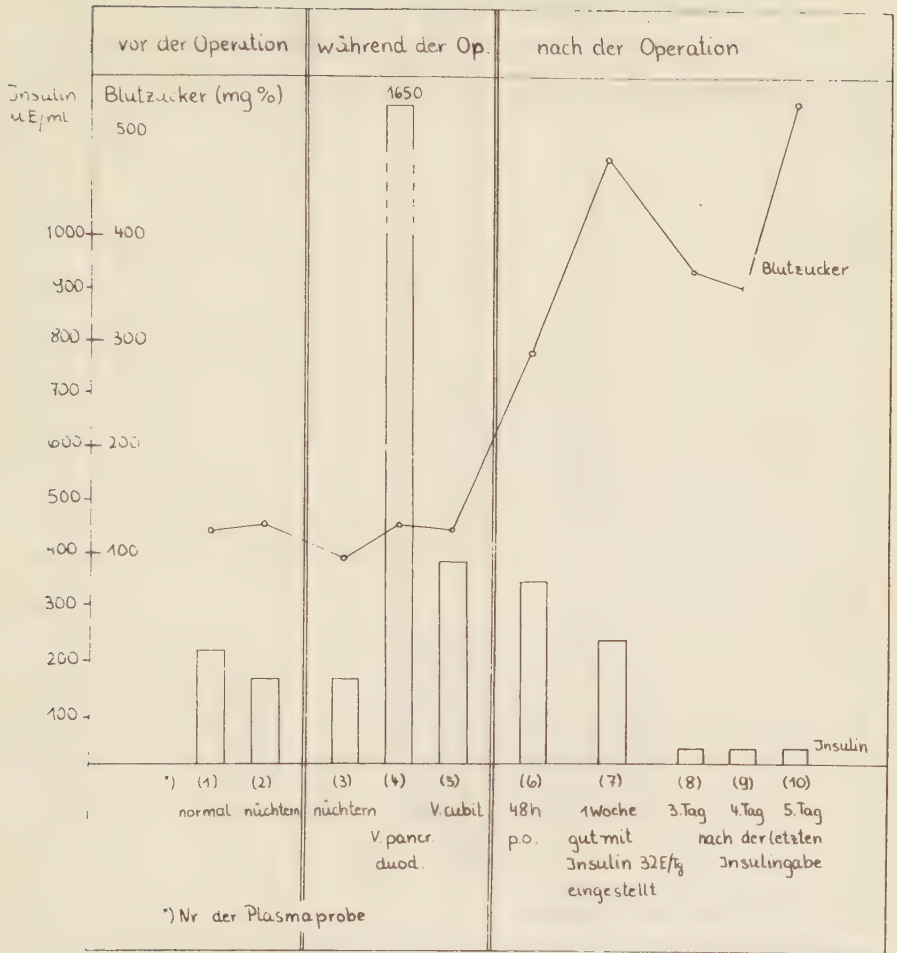


Abb. 4 : Verhalten der Plasma-Insulin-Aktivität
vor, während und nach totaler Pankreatektomie bei Hund „B“.

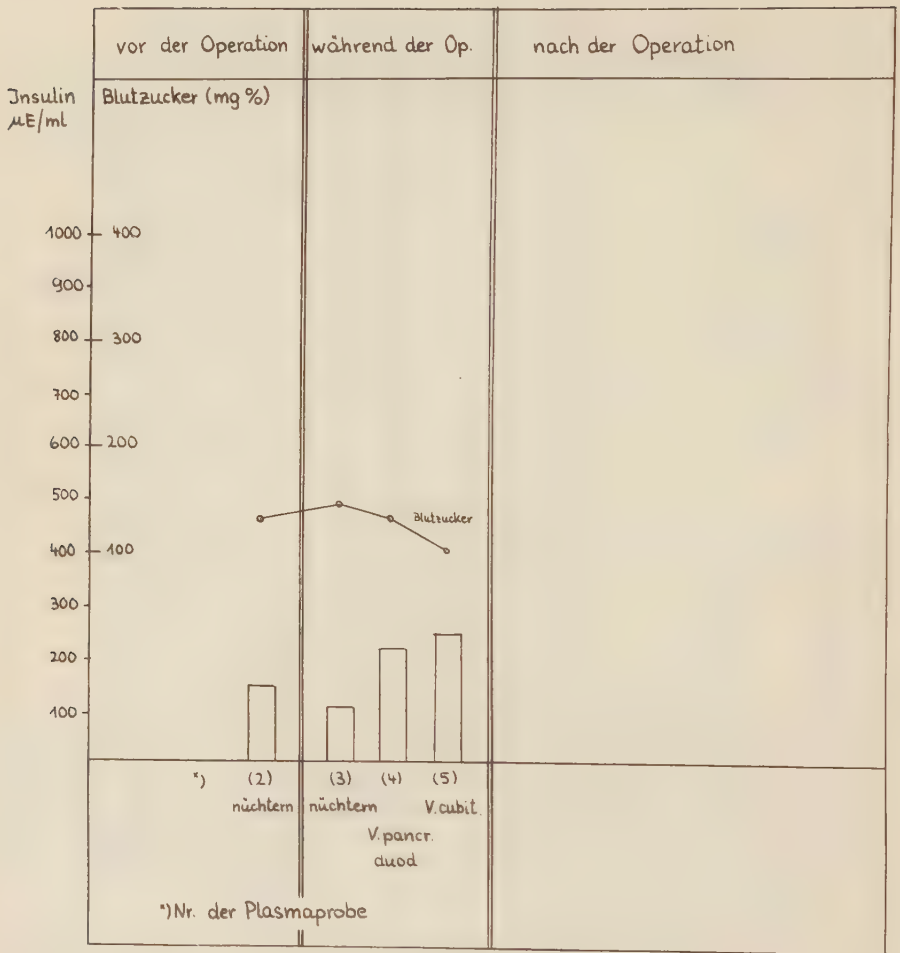


Abb 5: Verhalten der Plasma- Insulin-Aktivität
vor und während der totalen Pankreatektomie bei Hund „C“.

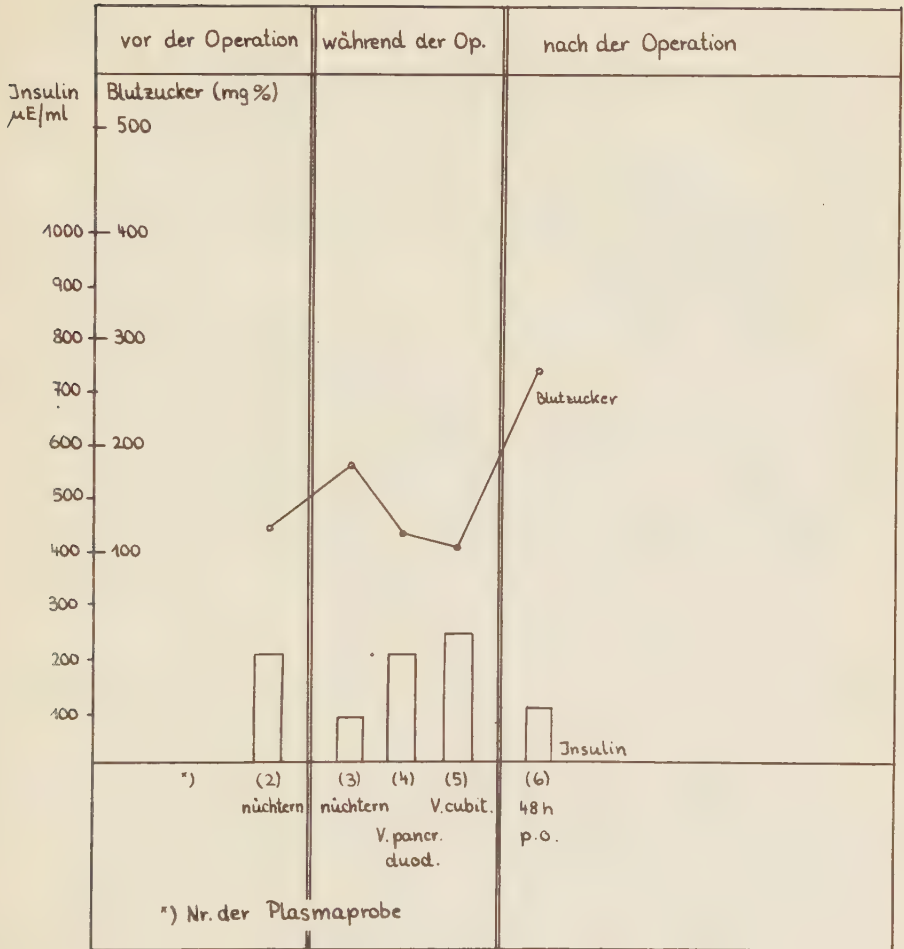


Abb. 6: Verhalten der Plasma-Insulin-Aktivität

vor, während und nach totaler Pankreatektomie bei Hund „D“.

- 3.) 48 Stunden nach der Operation war nur ein geringer Abfall der Plasma-Insulin-Aktivität gegenüber den Werten vor der Operation zu sehen, was mit dem zu diesem Zeitpunkt im Körper noch vorhandenen endogenen Insulin erklärt werden kann.
- 4.) Nach einer Woche Behandlung mit exogenem Insulin (32 E/Tag) liegen die Werte der Insulin-Aktivitäten zwischen den Extremwerten, die vor der Pankreatektomie gefunden wurden. Vielleicht kann man daraus ableiten, daß exogenes Insulin im Plasma durchaus nachweisbar ist, d.h. keine Inhibitoren den Nachweis stören.
- 5.) Nachdem die pankreatektomierten Hunde drei bis fünf Tage kein Insulin mehr bekommen haben, ist bei Hund "B" keine nennenswerte Insulin-Aktivität des Plasmas mehr nachweisbar. Mittelwert um $< 30 \mu\text{E/ml}$. Die niedrigen Werte ließen sich auch bei mehrfachen Bestimmungen stets nachweisen.
- 6.) Als Zeichen der zunehmenden diabetischen Stoffwechselstörung stellten sich bei Hund "B" Hyperglykämie, Glykosurie und Ketonurie ein. Der Blutzucker stieg bis auf 525 mg%, im Harn wurde bis zu 40,0 g Zucker pro Tag ausgeschieden, gleichzeitig waren

als Zeichen der diabetischen Azidose Keton-Körper im Urin nachweisbar.

7.) Bei Hund "A" ist ein Absinken des Plasma-Insulin-Gehaltes nicht sicher nachweisbar. Der Blutzucker ist gegenüber vor der Pankreatektomie deutlich erhöht, er erreicht im ganzen Werte bis 328 mg%; Glykosurie und Ketonurie sind ausgeprägt.

Es besteht also eine Diskrepanz zwischen der gemessenen Plasma-Insulin-Aktivität einerseits und den Zeichen der diabetischen Stoffwechselentgleisung nach der operativen Entfernung des Pankreas andererseits.

Diskussion:

Ehe die eigenen Ergebnisse im einzelnen besprochen werden, soll auf die augenblicklich zur Verfügung stehenden Methoden zur Plasma-Insulin-Bestimmung und ihre Genauigkeit im Vergleich zu der in dieser Arbeit verwandten Methode eingegangen werden.

Das Prinzip der biologischen Nachweisverfahren besteht im Vergleich der physiologischen Wirkungen, die kristallisiertes Insulin und insulinhaltige Körperflüssigkeiten im Kohlenhydratstoffwechsel auszulösen vermögen.

Entweder dient die Reaktion des Blutzuckers des lebenden Versuchstieres als Maß, oder die Stoffwechselveränderungen, die Insulin an isolierten Geweben *in vitro* hervorruft.

1.) Die blutzuckersenkende Wirkung am hungernden Kaninchen, die in der pharmazeutischen Industrie zur Standardisierung von Insulinlösungen allgemein verwandt wird, ist für eine Insulinbestimmung im Plasma zu unempfindlich. Die Empfindlichkeit kann gesteigert werden, wenn man kleinere Versuchstiere wählt und bei diesen die kontrainsulär wirkenden Drüsen Hypophyse und Nebenniere ausschaltet, sowie den eigenen Inselapparat durch Alloxan zerstört.

Bei den sogenannten "ADHA-Ratten" von Bornstein (= Alloxan-Diabetic, Hypophysectomized, Adrenalectomized Rats) kann durch Injektion geringer Insulinmengen ein meßbarer Blutzucker-Abfall bewirkt werden. Das Verfahren wird von folgenden Autoren benutzt: Gellhorn u. Mitarb. (1941 a u. b), Anderson u. Mitarb. (1947 u. 1957), Bornstein (1950), Reigelman u. Mitarb. (1956). Alloxandiabetische, hypophysektomierte Mäuse, die bis auf Dosen von 10 μ E Insulin empfindlich reagieren, werden von Yenerman u. Mitarb. (1953) zur Plasma-Insulin-Bestimmung angegeben. Von den genannten Autoren haben besonders Bornstein und seine Mitarbeiter viel Erfahrung mit ihrer Methode. Diese geben als Normalwerte des

menschlichen Plasmas 10^{-4} E/ml nüchtern und 3×10^{-4} E/ml nach oraler Glukosegabe an. Bornstein (1951 a) beschreibt nach Untersuchungen menschlichen Diabetikerplasmas mit dieser Methode zwei Typen des menschlichen Diabetes, nämlich mit und ohne Insulin im Serum.

Andere Forscher, die diese Angaben nachprüften, kamen zu dem Ergebnis, daß diese Methode nicht zu empfehlen sei, da die operative Vorbereitung der Ratten sehr schwierig sei, und außerdem der Blutzucker bei den so veränderten - um nicht zu sagen geschädigten - Tieren zu labil sei, als daß er zuverlässig auf kleine Insulinmengen antworten könne. Auch sollen andere Faktoren des injizierten Plasmas den Blutzucker beeinflussen können. (Randle, 1954/1957/1958)

2.) Bei den In-vitro-Testen werden folgende Gewebe benutzt:

- a. das halbierte Rattenzwerchfell,
- b. das isolierte perfundierte Rattenherz,
- c. die laktierende Mamma der Ratte,
- d. der epididymale Fettanhang der Ratte.

Am Muskelgewebe (Rattenzwerchfell und perfundiertes

Herz) wird die Steigerung der Glukoseaufnahme aus dem umgebenden bzw. durchströmenden Medium als Maß für die in vitro zugegebene Insulinmenge ausgewertet; bei Gewebsschnitten der laktierenden Mamma die CO_2 -Bildung; beim Nebenhodenfett die C^{14}O_2 -Bildung aus radioaktiv markierter Glukose, die ebenfalls dem Medium zugesetzt wird. Diese Methoden wurden angegeben und werden angewendet von folgenden Autoren: Balmain u. Mitarb. (1954), Bleehan u. Mitarb. (1954), Abraham u. Mitarb. (1957).

Sehr verbreitet ist die Rattenzwerchfell-Methode. Sie wurde zuerst 1952 von Groen u. Mitarb. angegeben und geht auf Beobachtungen von Gemmill u. Mitarb. (1940 u. 1941) zurück, der zeigen konnte, daß Insulin in vitro die Glukose-Utilisation und die Glykogen-Synthese des isolierten Muskels stimuliert. Seit 1952 wird diese Methode von Perlmutter u. Mitarb. und seit 1954 auch von Randle u. Mitarb. sowie Vallance-Owen u. Mitarb. angewandt. Mit dieser Methode konnten die Ergebnisse von Bornstein, daß es zwei Arten von Diabetes gäbe, durch Vallance-Owen u. Mitarb. (1955) bestätigt werden.

Die in neuerer Zeit angegebene Nebenhodenfett-Methode ist nach rechnerischer Prüfung durch Ditschuneit u.

Mitarb. (1959) wesentlich empfindlicher und mit geringerer Fehlerbreite behaftet als die Rattenzwerchfell-Methode. Sie wurde von Martin, Renold u.a. (1958) angegeben und baut auf den Arbeiten folgender Autoren auf: Renold u. Mitarb. (1950), Krahl (1951), Hausberger u. Mitarb. (1954/1955), Milstein u. Mitarb. (1956), Sidman (1956).

Die Fehlerbreite der Nebenhodenfett-Methode beträgt nach Ditschuneit 60% bis 170%, d.h. der wahre Wert einer gefundenen Insulin-Konzentration liegt mit 95% Wahrscheinlichkeit innerhalb der Grenzen von 60% und 170% des gefundenen Wertes, oder mit anderen Worten: Werte, die einem gefundenen Wert von $100 \mu\text{E/ml}$ näher als $60 \mu\text{E/ml}$ und $170 \mu\text{E/ml}$ liegen, sind nicht signifikant von einander verschieden. Die Fehlerbreite der Rattenzwerchfell-Methode wird von Ditschuneit, Randle u.a. mit 30% und 300% des gefundenen Wertes angegeben, wenn 5 Ratten für einen Versuch genommen werden. Die Genauigkeit ist also geringer.

Zurzeit gilt die Methode von Martin u. Mitarb. (1958) als die verlässlichste. Es erhebt sich nun also die Frage, wie die eigenen Ergebnisse, die mit dieser Methode gewonnen wurden, zu bewerten sind.

In den Plasmaproben, die während der Operation entnommen wurden, zeigte sich bei Hund "B" eine erhebliche Differenz der Plasma-Insulin-Aktivität im Pankreasvenenblut gegenüber peripherem Blut, nämlich 1650 μ E/ml gegenüber 380 μ E/ml. Solche Differenzen sind von Pfeiffer u. Mitarb. (1958), Martin u. Mitarb. (1958) u.a. beschrieben worden.

Man nimmt an, daß ein Teil des Insulins, das vom Pankreas über die Pankreasvenen und die Pfortader in die Leber gelangt, dort zurückgehalten wird. In diesem Sinne sprechen Befunde von Madison u. Mitarb. (1958) sowie Mortimore u. Tietze (1959), die feststellten, daß nach intraportaler Injektion von exogenem J^{131} - Insulin nach einer einzigen Leberpassage bei Menschen und Tieren eine Abbindung der zugeführten Insulindosis etwa um die Hälfte auftrat. Das Insulin soll entweder von der Leber aus später noch in die Peripherie abgegeben werden und den peripheren Insulinspiegel mit aufrechterhalten helfen, oder es soll seinen Einfluß auf die Glukoseproduktion und Glukoseabgabe in der Leberzelle entfalten. Letzteres soll nur während der auf verschiedene Weise ausgelösten Glykogenolyse möglich sein. Welche Rolle das Insulin aber im einzelnen im Leberstoffwechsel spielt, ist bisher ungeklärt.

Der gegenüber der Peripherie erhöhte Insulingehalt im Pankreasvenenblut ist keineswegs konstant nachweisbar. Vielmehr ist eine momentane vermehrte Sekretion des Pankreas Voraussetzung für dieses Phänomen. Zum Beispiel steigt der Insulinspiegel im Pankreasvenenblut gegenüber der Peripherie stark an, wenn die Inselzellen durch Sulfonylharnstoff stimuliert werden. Pfeiffer (1961), sowie Ditschuneit u. Mitarb. (1962) berichten über Hunde, denen operativ ein Shunt zwischen Pankreasvenen und Vena jugularis zur Umgehung der Leber angelegt wurde. Nach Injektion von D 860 (Tolbutamid, Rastinon) stieg die Plasma-Insulin-Aktivität plötzlich im peripheren Venenblut steil an, kehrte aber bereits nach einer halben Stunde zu den Ausgangswerten zurück. Auch bei Dauerinfusion von D 860 scheint sich die Insulinsekretion des Pankreas nach ca. einer halben Stunde zu erschöpfen. Eine erneute Ansprechbarkeit der Inselzellen wurde frühestens nach zwei bis drei Stunden gefunden.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß man nicht ständig höhere Insulinspiegel im Pankreasvenenblut erwarten darf, sondern nur zu Zeiten besonderer Stimulierung der Inselzellen. Die vermehrte Sekretion kann

dann aber in der Peripherie verborgen bleiben, wenn das Blut die Leber passiert hat. Andererseits kann das Fehlen eines hohen Insulinspiegels im Pankreasvenenblut dadurch bedingt sein, daß der Zeitpunkt der Blutentnahme gerade in die Refraktärphase nach Stimulierung der Inselzellen fällt.

Von hier ist die fehlende Differenz der Plasma-Insulin-Aktivität im Pankreasvenenblut und peripherem Blut bei unseren anderen drei Hunden zu verstehen. Es mag sein, daß durch das Operationstrauma bedingt, das Pankreas alles Insulin ausgeschüttet hat und dieses nun z.T. in der Leber festgehalten wird. Zum Zeitpunkt der Entnahme aus der V.pancreatico-duodenalis muß dies bereits geschehen sein. Für eine derartige Reaktionsweise des Pankreas sprechen auch andere Befunde: Z.B. wurden von Ditschuneit u. Mitarb. (1961) bei Insulom-Exstirpationen am Menschen acht Tage nach der Operation bei dann spontan auftretenden Hypoglykämien noch hohe Plasma-Insulin-Werte im peripheren Blut gefunden. Dabei ließ sich aus dem entfernten Tumor kein Insulin extrahieren.

Auch die Tatsache, daß 48 Stunden p.o. bei keinem unserer Hunde ein nennenswerter Abfall der Plasma-Insulin-Aktivität zu verzeichnen war, spricht für die genannte Ueber-

legung, daß sich in der Leber noch Insulin befindet, das erst allmählich in den Kreislauf abgegeben wird. Andererseits wissen wir aber auch nicht, wie lange körpereigenes - oder exogen zugeführtes - Insulin im Organismus kreisen kann, ehe es abgebaut oder inaktiviert wird. .

Nach der totalen Pankreatektomie und fünf Tage nach der letzten Insulin-Injektion sollte man ein vollständiges Verschwinden der Plasma-Insulin-Aktivität erwarten; jedoch trat dies Ergebnis nur bei einem Hund ein.

Zunächst entsteht der Verdacht, daß die Pankreatektomie nicht vollständig gewesen sei. Wie wir von A.Sirek/Toronto erfuhren, ist nach dem Tod der Tiere die Vollständigkeit der Exstirpation durch genaue Obduktion nachgewiesen worden. Die Zeichen der Stoffwechselstörung - Hyperglykämie, Glykosurie, Ketonurie - bei den beiden überlebenden Tieren bilden ebenfalls einen Hinweis für den Erfolg der Radikaloperation.

Wie wir ferner hörten, sind inzwischen zwei weitere Hunde nach totaler Pankreatektomie bei Renold u.Mitarb. in Boston mit der Nebenhodenfett-Methode untersucht

worden, und auch diesmal sei bei einem Hund kein Abfall, bei dem zweiten ein deutlicher, jedoch nicht bis 0 gehender Abfall der Plasma-Insulin-Aktivität aufgetreten. Egdahl (unveröffentlicht) konnte zwei Wochen nach totaler Pankreatektomie unverändert Insulin nachweisen. (Die Tiere bekamen kein exogenes Insulin, die Azidose wurde mit Bikarbonat behandelt).

A.Sirek wirft daher die Frage auf, ob in den pankreatektomierten Tieren noch endogenes oder exogenes Insulin in biologisch inaktiver Form vorhanden sei, das im Verlauf der Nachweisprozedur aus einer Bindung freigesetzt und dann meßbar würde.

In diesem Zusammenhang sind nun Befunde interessant, die von Pfeiffer u. Mitarb. (1962) am Menschen erhoben wurden: Bei Untersuchungen über die Lokalisation von insulinneutralisierenden Antikörpern im Serum sog.

"insulinresistenter" Diabetiker wurde den Kranken mit J^{131} markiertes Insulin injiziert. Das radioaktive Insulin konnte bedeutend länger im Blut nachgewiesen werden als bei gesunden Vergleichspersonen. Die lange biologische Halbwertszeit, die normalerweise eine halbe Stunde beträgt, sei ein Zeichen dafür, daß der insulinbindende Antikörper, der nach elektrophoretischen Unter-

suchungen im Bereich der γ -Globuline zu finden ist, das Insulin sogar vor dem natürlichen Abbau im Blut geschützt. Zu gewissen Zeiten gibt er dagegen das Insulin frei. Klinisch ist diese Freisetzung durch hypoglykämische Phasen gekennzeichnet, während derer tatsächlich eine normale oder sogar erhöhte Insulin-Aktivität im Blut zu messen sei. Es wird die Möglichkeit diskutiert, daß Insulin-Antikörper bei jeglicher Behandlung mit Fremdinsulin auftreten können, ohne gleich zur klinischen Insulinresistenz zu führen. Es wird allerdings nicht gesagt, wie lange der Organismus braucht, bis er nach Beginn der Insulin-Injektionen die insulin-neutralisierenden Antikörper bereit hat.

So ist durchaus zu diskutieren, ob bei pankreatektomierten Hunden, die eine zeitlang mit Fremdinsulin substituiert wurden, ein ähnlicher Mechanismus der klinisch nicht als Insulin-Resistenz erscheinenden Antikörperbildung abläuft, so daß nach Absetzen der Injektionen bei zunehmender Stoffwechselentgleisung trotzdem in vitro noch eine gewisse Plasma-Insulin-Aktivität nachweisbar bleibt. Es würde sich dann also um exogenes Insulin handeln, das an Plasmaeiweiß gebunden, in manchen Fällen abnorm lange im Organismus verweilen würde, ohne seine spezifische Wirksamkeit entfalten zu können. Denkbar wäre natürlich

auch, daß das körpereigene endogene Insulin in gebundener Form in Einzelfällen abnorm lange überleben kann. Diesbezügliche immunbiologische Untersuchungen am Hund sind bisher nicht veröffentlicht worden.

Untersuchungen der Plasma-Insulin-Aktivität mit den anderen genannten Nachweismethoden nach totaler Exstirpation des Pankreas liegen nicht allzu zahlreich vor: Mit der Rattenzwerchfell-Methode ist von Groen u. Mitarb. (1952) beim Hunde ein Verschwinden der Plasma-Insulin-Aktivität angegeben. Desgleichen beschreibt Vallance-Owen (1957) bei Katzen nach Pankreatektomie die Insulin-Aktivität = 0 bei gleichzeitigem Vorhandensein eines Inhibitors im Serum, der durch Zusatz von Insulin in vitro nachgewiesen werden kann und der verschwindet, wenn die Katzen nicht nur pankreatektomiert, sondern auch noch adrenaletomiert werden.

Im Zusammenhang mit diesen unterschiedlichen Ergebnissen sei auf eine sehr interessante Untersuchung von Steinke u. Mitarb. (1962) hingewiesen.

Diese Autoren untersuchten das Serum von 5 pankreatektomierten Hunden sowohl mit der Rattenzwerchfell-, als auch mit der Nebenhodenfettmethode. Die Hunde bekamen postoperativ kein Insulin mehr und starben am 5.-8. Tag p.o. Dabei zeigte sich, daß bei der Bestimmung mit der Fett-

gewebs-Methode die Plasma-Insulin-Aktivität 24 Stunden nach der Operation bei allen Hunden deutlich geringer wurde, dann jedoch bis zum Tod der Tiere trotz zunehmender Stoffwechselentgleisung nicht weiter absank. Das-selbe Serum zeigte bei der Untersuchung mit der Ratten-zwerchfell-Methode keine Aktivität mehr! Steinke ist der Meinung, daß in den pankreaslosen Hunden noch Insulin kreist, das nur langsam im Körper abgebaut wird und sich biologisch inaktiv verhält. Lediglich auf Rattenfett-gewebe übe es in vitro noch eine Wirkung aus, nicht dagegen auf Rattenzwerchfell.

Inwieweit die Ueberlebenszeit des endogenen Insulins nach Pankreatektomie mit der Bindung an ein bestimmtes Plasmaeiweiß zusammenhängt, konnte in der Arbeit nicht geklärt werden. Nach elektrophoretischer Trennung des Serums wurde in allen Fraktionen Plasma-Insulin-Aktivi-tät nachgewiesen, deren Summe jedoch höher war als die Aktivität des ganzen Serums.

Auf eine weitere, im Augenblick noch nicht abgeschlossene Arbeit von Schöffling u. Mitarb. (1963) aus unserem Laboratorium sei an dieser Stelle verwiesen. Diese Autoren untersuchten ebenfalls mit beiden diskutierten Methoden die Plasma-Insulin-Aktivität im Serum von sog. "Houssay-Hunden". Sie gingen von der Ueberlegung aus, daß Hunde nach einer Pankreatektomie nicht lange

überleben und entfernten deshalb außerdem die Hypophyse. Dadurch wurden Ueberlebenszeiten bis zu 5 Wochen ohne exogene Insulingabe erreicht. Es zeigte sich bei der Untersuchung mit der Fettgewebs-Methode, daß die Plasma-Insulin-Aktivität erst 3 bis 5 Wochen p.o. auf deutlich niedrigere Werte absank, jedoch bis zum Tode nachweisbar blieb. Bei der Bestimmung mit der Rattenzwerchfell-Methode zeigte das Serum von 3 Tieren keinerlei Aktivität mehr, bei den übrigen 3 war sogar mit dieser Methode noch Insulin-Aktivität bestimmbar. Zur Aufklärung dieser unterschiedlichen Ergebnisse werden von Schöffling u. Mitarb. zurzeit noch immunologische und elektrophoretische Untersuchungen durchgeführt. Auch diese Autoren sind der Meinung, daß das Insulin in biologisch inaktiver Form, an ein Plasmaeiweiß gebunden, über längere Zeit im Organismus kreisen kann.

In den Berichten über das postoperative Verhalten des Stoffwechsels nach totaler Pankreatektomie beim Menschen von Goldner u. Mitarb. (1944), Creutzfeldt u. Mitarb. (1959 u. 1961) und Kühnlein (1959) sind keine Bestimmungen der Plasma-Insulin-Aktivität vorhanden.

Als charakteristisch für den pankreatektomierten Diabetes des Menschen wird von allen Untersuchern mitgeteilt, daß er erstens wesentlich insulinempfindlicher sei als der spontane menschliche Diabetes, infolgedessen die Kranken

besonders stark von Hypoglykämien bedroht sind (hypoglykämischer Schock wird auch bei verschiedenen Fällen in der Literatur als Todesursache eines pankreatektomierten Patienten angegeben), und daß zweitens der Insulinbedarf durchschnittlich nicht mehr als 32 E/Tag betrage (20-40 E), also weniger als bei vielen spontanen menschlichen Diabetesfällen (Creutzfeldt, Kühnlein, hier auch weitere Literatur).

Creutzfeldt ist der Ansicht, daß ein täglicher Insulinbedarf unter 16 E für eine unvollständige Pankreatektomie, Werte über 48 E/Tag für das Auftreten von spezifischen oder unspezifischen Antikörpern gegen das injizierte Insulin sprächen. Dabei zitiert er den berühmten Fall von Dituri (1954), bei dem der Insulinbedarf ohne äußeren Anlaß von 20 E/Tag allmählich auf 180 E/Tag und mehr stieg und auch freie Antikörper nachgewiesen wurden.

Es ist bis jetzt noch nicht möglich, das aufgezeigte unterschiedliche Verhalten der Plasma-Insulin-Aktivität nach totaler Pankreatektomie zu deuten. Weitere Untersuchungen zu dieser Frage sind geplant. Die vorliegende Arbeit ist deshalb als vorläufige Mitteilung aufzufassen.

Zusammenfassung:

Es wird über die Insulin-Aktivität im Plasma von vier Hunden, die einer totalen Pankreatektomie unterworfen wurden, berichtet.

Die Plasma-Insulinaktivitäten wurden am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe radioaktiv markierter Glukose gemessen.

Es ergab sich, daß der Durchschnittswert der Plasma-Insulin-Aktivität bei normalen Hunden um $170 \mu\text{E/ml}$ liegt. Bei einem Hund zeigte sich während der Operation eine grosse Differenz des Insulingehaltes im Blut der Vena pancreatico-duodenalis gegenüber peripherem Venenblut aus der Vena cubitalis, nämlich $1650 \mu\text{E/ml}$ gegenüber $380 \mu\text{E/ml}$.

Nach der totalen Pankreatektomie starben zwei Hunde sofort, die beiden anderen überlebten. An der Plasma-Insulin-Aktivität änderte sich solange nichts, bis exogen zugeführtes Insulin (32 E/Tag) 3-5 Tage weggelassen wurde. Dann zeigten die Hunde ein unterschiedliches Verhalten: Zeichen der diabetischen Stoffwechselstörung

wie Hyperglykämie, Glykosurie und Ketonurie waren immer vorhanden, dagegen verhielt sich die Plasma-Insulin-Aktivität bei einem Hund uncharakteristisch, lediglich bei dem anderen verschwand sie fast völlig; die Werte lagen hier bei 30 ~~AE~~/ml.

Das unterschiedliche Verhalten der Plasma-Insulin-Aktivitäten wird diskutiert und auf Bindung des Hormons an Plasma-Eiweiße mit abnorm langer Ueberlebenszeit zurückgeführt.

Literaturverzeichnis:

1. Abraham, S., Cady, P., Chaikoff, J.L.:
Effect of Insulin in vitro on Pathways of Glucose Utilization, other than Emden-Meyerhof in Rat Mammary Gland.
J.Biol.Chem. 224:955, 1957
2. Anderson, E., Linder, E., Sutton, V.:
A Sensitive Method for the Assay of Insulin in Blood.
Am.J.Physiol. 149:350, 1947
3. Anderson, E., Wherry, F., Bates, R.W., Cornfield, J.:
A Method for Assay of Insulin Using Alloxan Diabetic Hypophysectomized Mouse.
Proc.Soc.Exp.Biol. 94:321, 1957
4. Balmain, J.H., Cox, C.P., Folley, S.J., McNaught, M.L.:
The Bioassay of Insulin in vitro by Manometric Measurements on Slices of Mammary Glands.
J.Endocrin. 11:269, 1954
5. Beigelman, P.M., Goetz, F.C., Antoniades, H.N., Thorn, G.W.:
Insulin-like Activity of Human Plasma Constituents.
I. Description and Evaluation of Biological Assay for Insulin-like Activity.
Metabolism 5:35, 1956
6. Bleehan, N.M., Fisher, R.B.:
The Action of Insulin in the Isolated Rat Heart.
J.Physiol.(Lon.) 123:260, 1954
7. Bornstein, J.:
A Technique for the Assay of Insulin Using Alloxan Diabetic, Hypophysectomized, Adrenalectomized Rats.
p.93: Normal Insulin Concentration in Man.
Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci. 28:87, 1950

8. Bornstein, J., Lawrence, R.D. (a):
Two Types of Diabetes Mellitus, with and without Available Plasma Insulin.
Brit.Med.J. 1:732, 1951
9. Bornstein, J., Lawrence, R.D. (b):
Plasma Insulin in Human Diabetes Mellitus.
Brit.Med.J. 2:1541, 1951
10. Bornstein, J., Trehwella, P.:
An Anti-Insulin Factor in the Plasma of Diabetic Patients.
Med.J.Aust. 1:119, 1951
11. Bornstein, J., Park, C.R.:
Inhibition of Glucose Uptake by the Serum of Diabetic Rats.
J.Biol.Chem. 205:503, 1953
12. Bornstein, J.:
Insulin-Reversible Inhibition of Glucose Utilization by Serum Lipoprotein Fractions.
J.Biol.Chem. 205:513, 1953
13. Creutzfeldt, W., Kümmerle, W., Kern, E.:
Beobachtungen an 4 Patienten mit totaler Duodenopankreatektomie wegen eines Carzinoms des Pankreas.
Dtsch.med.Wschr. 84:541, 1959

Creutzfeldt, W., Kern, E., Kümmerle, F., Schumacher, J.:
Die radikale Entfernung der Bauchspeicheldrüse beim Menschen - Indikationen, Ergebnisse, Folgeerscheinungen.
Ergebnisse Innere Med.u.Kinderheilk. N.F.16:79, 1961
15. Ditschuneit, H., Chan-Su Ahn, Pfeiffer, M., Pfeiffer, E.F.:
Ueber die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glucose.
I. Methodik und Fehlerbreite
Klin.Wschr. 37:1234, 1959
16. Ditschuneit, H., Pfeiffer, E.F., Schöffling, K.:
Seruminsulinbestimmungen bei Inselzelladenomen.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 67:359, 1961

17. Dituri, B.:
Insulin-resistant Diabetes after Total Pancrea-
tectomy.
New Eng.J.Med. 251:13, 1954
18. Gellhorn, E., Feldman, J., Allen, A. (a):
Assay of Insulin on Hypophysectomized, Adreno-
demedulated, and Hypophysectomized-adreno-deme-
dulated Rats.
Endocrinology 29:137, 1941
19. Gellhorn, E., Feldman, J., Allen, A. (b):
Insulin Concentration in the Blood of Normal and
Depandreytized Dogs.
Endocrinology 29:849, 1941
20. Gemmill, C.L.:
The Effect of Insulin on the Glycogen Content of
Isolated Muscles.
Bull.Johns Hopkins Hosp. 66:232, 1940
21. Gemmill, C.L., Hamman, L.jr.:
The Effect of Insulin on Glycogen Deposition and
on Glucose Utilization by Isolated Muscles.
Bull.Johns Hopkins Hops. 68:50, 1941
22. Gemmill, L.C.:
The Effects of Glucose and of Insulin on the
Metabolism of the Isolated Diaphragm of the Rat.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 68:329, 1941
23. Goldner, M.G., Clark, D.E.:
Insulin Requirement of Man after Total Pancrea-
tectomy.
J.clin.Enocr. 4:194, 1944
24. Groen, J., Kamminga, C.E., Willebrands, A.F., Blickman, J.R.:
Evidence for the Presence of Insulin in the Blood
Serum. A. Method for an Approximate Determination
of the Insulin Content of Blood.
J.Clin.Invest. 31:97, 1952

25. Hausberger, F.X., Milstein, S.W., Rutman, R.J.:
The Influence of Glucose Utilization in Adipose
and Hepatic Tissues in vitro.
J.Biol.Chem. 208:431, 1954
26. Hausberger, F.X., Milstein, S.W.:
Dietary Effects on Lipogenesis in Adipose Tissue.
J.Biol.Chem. 214:483, 1955
27. Hugget, A.St.G., Nixon, D.A.:
Enzymic Determination of Blood Glucose.
Biochem.J. 66:12, 1956
28. Krahl, M.E.:
The Effect of Insulin and Pituitary Hormones
on Glucose Uptake in Muscle.
Ann.New York Acad. Sci. 54:649, 1951
29. Kühnlein, E.:
Stoffwechselprobleme der totalen Pankreatektomie
am Menschen.
Münch.med.Wschr. 101:1592, 1959
30. Leonards, J., R.:
Insulin-like Activity of Blood.
What it is?
Fed.Proc. 18:272, 1959
31. Madison, L.L., Kaplan, N.:
The Hepatic Binding of J¹³¹-labeled Insulin in
Human Subjects during a single Transhepatic Circulation.
J.Lab.Clin.Med. 52: 927, 1958
32. Martin, D.B., Renold, A.E., Dagenais, Y.M.:
An Assay for Insulin-like Activity Using Rat
Adipose Tissue.
Lancet 1958 II, 76
33. Martin, D.B., Dagenais, Y.M., Pfeiffer, E.F., Renold, A.E.:
III. Kongr.Internat.Diab.Fed., Düsseldorf
21.-25.Juli 1958 S.592'

34. Milstein, S.W.:
Oxidation of Specifically Labeled Glucose
by Rat Adipose Tissue.
Proc.Soc.Exp.Biol. (N.Y.) 92:632, 1956
35. Milstein, S.W., Hausberger, F.X.:
Effects of Glucose Concentration and Insulin
in Rat Liver and Adipose Tissue.
Diabetes 5:89, 1956
36. Mortimore, G.F., Tietze, F.:
Studies on the Fate of Insulin-J¹³¹ in the
Perfused Rat Liver.
Metabolism 8:479, 1959
37. Perlmutter, A., Weisenfeld, S., Mufson, A.:
Bioassay of Insulin in Serum Using the Rat
Diaphragm.
Endocrinology 29:442, 1952
38. Pfeiffer, E.F.:
Grundlagen und Perspektiven der oralen Diabetes-
therapie mit Sulfonylharnstoffen.
IV. Kongr.Intern.Diab.Vereinigung,
Genf, 10.-14.7.1961
Ed.Méd.et Hygiène Genève, p.671
39. Pfeiffer, E.F., Renold, A.E., Martin, D.B.,
Dagenais, Y.M., Meakin, J.W., Nelson, D.H.,
Shoemaker, G., Thorn, G.W.:
Untersuchungen über die Rolle des Pankreas
im Wirkungsmechanismus blutzuckersenkender
Sulfonylharnstoffe.
III.Kongr.Internat.Diab.Fed., Düsseldorf,
21.-25.Juli 1958
40. Pfeiffer, E.F., Pfeiffer, M., Ditschuneit, H.,
Chang-Su Ahn:
Ueber die Bestimmung von Insulin im Blute
am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe
markierter Glucose.
II. Experimentelle u.klin.Erfolge.
Klin.Wschr. 37:1239, 1959

41. Pfeiffer, E.F., Ditschuneit, H.:
Aktuelle Probleme der Diabetestherapie.
Dtsch.med.Wschr. 87:2290, 1962
42. Randle, P.J.:
Assay of Plasma Insulin Activity by the Rat
Diaphragm Method.
Brit.med.J. 1:1237, 1954
43. Randle, P.J.:
The Assay of Insulin in Vitro by Means of the
Glucose Uptake of the Isolated Rat Diaphragm.
J.Endocrin. 14:82, 1956
44. Randle, P.J., Young, F.G.:
The Influence of Pituitary Growth Hormone on
Plasma Insulin Activity.
J.Endocrin. 13:335, 1956
45. Randle, P.J.:
Insulin in Blood.
Ciba Foundation Coll.Endocrin. 11:115, 1957
46. Randle, P.J.:
In: Modern Trends in Endocrinology p.59
Ed.H.Gardiner-Hill. London 1958
47. Renold, A.E., Marble, A., Fawcett, D.W.:
Endocrinology 46:55, 1950
48. Sidman, R.L.:
The Direct Effect of Insulin on Organ Cultures
of Brown Fat.
Anat.Rec. 124:726, 1956
49. Steinke, J., Sirek, A., Lauris, V., Lukens, F.D.W.,
Renold, A.E.:
Measurement of Small Quantities of Insulin-Like
Activity with Rat Adipose Tissue. III.Persistence
of Serum Insulin-Like Activity after Pancreatectomy.
J.clin.Invest 41:1699, 1962

50. Schöffling, K., Sirek A., Ditschuneit, H.,
Petzold, R., Sirek, O.V., Pfeiffer, E.F.:
Insulin-Aktivitäten im Serum von Houssay-Hunden
1963, im Druck
51. Vallance-Owen, J., Hurlock, B.:
Estimation of Plasma-Insulin by the Rat
Diaphragm Method.
Lancet 1:68, 1954
52. Vallance-Owen, J., Lukens, F.D.:
Studies on Insulin Antagonism in Plasma.
Endocrinology 60:625, 1957
53. Vallance-Owen, J., Dennes, E., Campbell, P.N.:
Insulin Antagonism in Plasma of Diabetic
Patients and Normal Subjects.
Lancet 1958 (16.Aug.):336
54. Vallance-Owen, J., Hurlock, B., Please, N.W.:
Plasma-Insulin-Activity in Diabetes Mellitus,
Measured by the Rat Diaphragm Technique.
Lancet 2:583, 1955
55. Willebrands, A.F., Geld, H.v.d., Groen, J.:
Influence of Serum Dilution on the Determination
of Serum Insulin by the Use of the Isolated Rat
Diaphragm.
Diabetes 7:119, 1958
56. Yenerman, A., Cornfield, J., Bates, R.W., Anderson, E.:
Assay of Insulin in Blood.
Federation Proc. 12:162, 1953

Lebenslauf.

Ich wurde am 1.5.1935 als älteste Tochter des Rechtsanwalts Dr. Alfred Flemming und seiner Frau Erna, geb. Mönnich, in Berlin geboren.

Nach dem Besuch verschiedener Volksschulen sowie der Oberschulen in Wilhelmshaven und Frankfurt/Main machte ich am 16.3.1954 das Abitur an der Elisabethenschule in Frankfurt/Main.

Von 1954 bis 1956 lernte ich den Beruf der Krankenschwester an der Schwesternschule der Universität Heidelberg und legte dort im März 1956 das staatliche Krankenpflegeexamen mit der Note "Sehr gut" ab.

Anschließend studierte ich von 1956 bis 1958 Medizin an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt/Main. Das Physikum bestand ich am 30.7.1958 in Frankfurt/Main mit der Note "Sehr gut".

Im Winter 1958/59 und im Sommer 1959 studierte ich in München, anschließend bis zum Sommer 1961 wieder in Frankfurt. Am 23.2.1962 bestand ich das Medizinische Staatsexamen mit der Note "Sehr gut".

Von 1959 bis zum Abschluß des Studiums war ich Stipendiat der Studienstiftung des Deutschen Volkes.

Seit August 1962 bin ich mit dem Diplomphysiker Friedrich Saure verheiratet und habe einen Sohn.

Von meiner Medizinalassistentenzeit habe ich 3 Monate in der Orthopäd.Universitätsklinik und 4 Monate in der Chirurg.Universitätsklinik absolviert. Zurzeit arbeite ich in der II.Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt/Main.

Frankfurt, 18.3.64

Erna Saure

Herrn Prof. Dr.med. E. F. Pfeiffer, Leiter der
Endokrinologischen Abteilung der I. Med. Univ.-
Klinik, danke ich für das Thema dieser Arbeit,
sowie für seine freundliche Beratung bei der Durch-
führung der Untersuchungen.

Für die Hilfe beim Einarbeiten in die Methode
sowie für zahlreiche Hinweise beim Auswerten der
Ergebnisse danke ich Herrn Dr.med. H. Ditschuneit,
Assistent der I. Med. Univ.-Klinik Frankfurt/Main.

Für die Ueberlassung des Hundeplasmas danke ich
Frau A. Sirek, M.D., Ph.D., Assistant Professor,
Banting & Best Department of Medical Research,
University of Toronto, und Herrn O. Sirek, M.D.,
Ph.D., Associate Professor, Department of Physiology,
University of Toronto.

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer:

Prof.Dr. W. Artelt	Geschichte der Medizin
Prof.Dr. W. Bickenbach	Frauenheilkunde
Prof.Dr. G. Bodechtel	Innere Medizin
Prof.Dr. W. Büngeler	Pathologie
Priv.Doz.Dr. P. Christ	Innere Medizin
Prof.Dr. F. Felix	Physiologische Chemie
Prof.Dr. H. Frick	Anatomie
Prof.Dr. R. Geissenhörfer	Chirurgie
Prof.Dr. H. Giersberg	Zoologie
Prof.Dr. E. Güntz	Orthopädie
Prof.Dr. W. Halbsguth	Botanik
Prof.Dr. K. Herzberg	Hygiene und Bakteriologie
Prof.Dr. F. Hoff	Innere Medizin
Prof.Dr. P. Holtz	Pharmakologie
Prof.Dr. J. Jürgens	Innere Medizin
Prof.Dr. G. Kahlau	Pathologie
Prof.Dr. E. Landes	Dermatologie
Prof.Dr. R. Mittermaier	Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde
Prof.Dr. R. Ortmann	Anatomie
Prof.Dr. B. de Rudner	Kinderheilkunde
Prof.Dr. A.W. Schwenzer	Frauenheilkunde
Prof.Dr. D. Starck	Anatomie
Prof.Dr. A. Thiel	Augenheilkunde
Prof.Dr. E. Ungeheuer	Chirurgie
Frau Prof.Dr. K. Weiße	Kinderheilkunde
Prof.Dr. K. Wezler	Physiologie
Prof.Dr. Th. Wieland	Organische Chemie
Prof.Dr. R. Zenker	Chirurgie
Prof.Dr. J. Zutt	Psychiatrie und Neurologie

Ehrenwörtliche Erklärung.

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

Insulinaktivitäten im Plasma von Hunden
nach Pankreatektomie

in der I. Medizinischen Universitäts-Klinik Frankfurt/Main unter Leitung von Prof.Dr. E. F. Pfeiffer mit Unterstützung durch Dr. H. Ditschuneit, Frankfurt/Main, Prof. A. Sirek, M.D., Toronto, Prof. O. Sirek, M.D., Toronto, ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 18.März 1964.

Erika Sawe

